

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
21. Dezember 2000 (21.12.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/77509 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: G01N 27/447,
30/60, 35/08, 15/14, B01L 3/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/05206

(22) Internationales Anmeldedatum:
6. Juni 2000 (06.06.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 27 533.5 16. Juni 1999 (16.06.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Aus-
nahme von US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE];
Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).
GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER SPEK-
TROCHEMIE UND ANGEWANDTEN SPEK-
TROSKOPIE E.V. [DE/DE]; Bunsen-Kirchhoff-Strasse
11, D-44139 Dortmund (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): EISENBEISS, Fried-
helm [DE/DE]; Luisenstr. 28, D-64331 Weiterstadt (DE).
STANISLAWSKI, Bernd [DE/DE]; Ilkenhansstr. 13,
D-60433 Frankfurt (DE). GREVE, Thomas [DE/DE];
Dieburger Str. 238, D-64287 Darmstadt (DE). BEN-
DER, Renate [DE/DE]; Altheimweg 14, D-64291
Darmstadt (DE). HERGENRÖDER, Roland [DE/DE];
Immermannstr. 35, D-44147 Dortmund (DE). WEBER,
Günther [DE/DE]; Justusweg 2, D-44149 Dortmund
(DE). GRASS, Benedikt [DE/DE]; Schlesien Str. 30,

D-59457 Werl (DE). NEYER, Andreas [DE/DE];
Langerfelderstr. 69a, D-56838 Iserlohn (DE). JÖHNCK,
Matthias [DE/DE]; Dülmener Str. 27a, D-48163 Münster
(DE). SIEPE, Dirk [DE/DE]; Vinckeplatz 7, D-44139
Dortmund (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH;
D-64271 Darmstadt (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL,
PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eura-
sisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- Mit internationalem Recherchenbericht.
- Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

BEST AVAILABLE COPY

WO 00/77509 A1

(54) Title: MINIATURIZED ANALYTICAL SYSTEM

(54) Bezeichnung: MINIATURISIERTES ANALYSENSYSTEM

(57) Abstract: The invention relates to the production and the design of flow-through elements for microstructured analytical systems. The inventive method allows the production of analytical systems from synthetic material that are provided with a liquid- and gas-tight channel structure in which thin-film electrodes may be arranged any place.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Herstellung und Aufbau von Durchflusseinheiten für mikrostrukturierte Analysensysteme. Das erfindungsgemässe Verfahren ermöglicht die Produktion von Analysensystemen aus Kunststoff, die eine flüssigkeits- und gasdichte Kanalstruktur aufweisen, in der sich an beliebigen Stellen Dünnschichtelektroden befinden können.

Miniaturisiertes Analysensystem

Die Erfindung betrifft die Herstellung und den Aufbau von miniaturisierten Analysensystemen, insbesondere solchen mit Steuer- und Meßvorrichtung für elektrische Leitfähigkeit.

Miniaturisierte Analysensysteme, insbesondere solche mit mikrofluidischer Kanalstruktur gewinnen zunehmend an Bedeutung. Auf besonderes Interesse stoßen miniaturisierte Analysensysteme, die Möglichkeiten zur elektrophoretischen Auftrennung und Analyse von Proben bieten.

Analyseeinheiten, die für derartige Anwendungen eingesetzt werden können, bestehen zumeist aus einer Bodenplatte (Substrat) und einem Deckel, zwischen denen sich Mikrokanalstrukturen, Elektroden und andere erforderliche Funktionalitäten, wie Detektoren, Reaktoren, Ventile etc. befinden.

Zu den Ansprüchen, die an ein mikrofluidisches Analysensystem gestellt werden müssen, gehört eine ausreichende Stabilität bezüglich mechanischer, chemischer, elektrischer und thermischer Einwirkungen. Für die Kanalstrukturen bedeutet mechanische Stabilität insbesondere Dimensions- und Volumenstabilität, was wichtige Voraussetzung für z.B. eine quantitativ reproduzierbare Probenaufgabe ist. Auch innere Druckstabilität der Mikrokanäle ist hinsichtlich des Einsatzes von z.B. Pumpen zum Befüllen der Mikrokanäle notwendig. Die verwendeten Materialien müssen selbstverständlich chemisch inert gegen das in den Kanälen transportierte Medium sein. Soweit Elektroden in den Kanal eingebracht werden, sollten diese mit hoher Genauigkeit (wenige μm) in dem Kanal positionierbar sein, um z.B. bei Verwendung als Detektorelektrode reproduzierbare Ergebnisse liefern zu können. Dazu ist auch Voraussetzung, daß die Kontaktflächen innerhalb des Kanals frei von Verunreinigungen sind. Die Elektroden sollten ferner einen geringen

Innenwiderstand und einen potentiell hohen Stromdurchfluß erlauben. Dies gilt insbesondere für sogenannte Leistungselektroden, mit denen in Abhängigkeit des verwendeten Mediums innerhalb der Kanäle ein elektrokinetischer Fluß erzeugt werden kann. Letztlich sollten die Elektroden leicht anschließbar sein.

Als Material zur Herstellung derartiger Analyseeinheiten dient häufig Siliziumdioxid oder Glas. Nachteil dieser Materialien ist jedoch, daß sie sich nicht zur kostengünstigen Massenfabrication der Analysensysteme eignen. Hierzu sind Materialien auf Kunststoffbasis wesentlich besser geeignet. Die Bauteile, wie Substrat und Deckel, die die eigentlichen Mikrostrukturen enthalten, können dann durch bekannte Verfahren, wie Heißprägen, Spritzguß oder Reaktionsguß kostengünstig und mit hoher Reproduzierbarkeit hergestellt werden.

Für das Verschließen der resultierenden offenen Mikrostrukturen mit Deckeln hingegen gibt es bisher für Bauteile aus Kunststoff keine massenproduktionsfähigen Techniken. Dies gilt insbesondere für solche Mikrokanalstrukturen, bei denen zusätzlich metallische Elektroden an beliebigen Stellen innerhalb einer geschlossenen Kanalstruktur zu positionieren sind und bei denen alle vier Seiten eines Kanals aus demselben Material bestehen.

In EP 0 738 306 wird ein Verfahren zum Verschließen von Mikrokanalstrukturen beschrieben, wobei ein gelöster Thermoplast auf das strukturierte Polymersubstrat aufgeschleudert wird. Dieser gelöste Thermoplast hat eine niedrigere Schmelztemperatur als die zu verklebenden Teile. Das thermische Verbinden von Deckel und Substrat erfolgt bei 140°C. Die Oberfläche des Kanals (3 Seitenwände) besteht somit aus dem thermoplastischen Klebstoff. Wird der Klebstoff auf den Deckel aufgeschleudert, ist mindestens eine Seite des Kanals mit dem Klebstoff benetzt.

In US 5,571,410 werden mikrofluidische Strukturen mit Laser-Ablation in Kapton™ erzeugt und mit einer KJ® beschichteten Kapton™ -Folie verschweißt. Auch hier besteht mindestens eine Seitenwand der Kanalstruktur aus einem zweiten Material.

Becker et al. (H. Becker, W. Dietz, P. Dannberg, „Microfluidic manifolds by polymer hot embossing for μ TAS applications,“ Proceedings Micro Total Analysis Systems 1998, 253-256, Banff, Canada) berichten über die Herstellung von mikrofluidischen Kanälen in heißgeprägtem PMMA, welche durch chemisch-unterstütztes Bonding mit PMMA-Deckeln verschlossen werden.

In WO 97/38300 wird ein Verfahren beschrieben, bei dem ein Deckel mit einer homogenen Polydimethylsiloxan (PDMS)-Klebschicht benetzt wird und mit einer Fluidikstruktur auf Polyacrylbasis verklebt wird.

Alle zuvor erwähnten Verfahren ermöglichen zwar, durch Verbinden eines Substrats mit einem Deckel Mikrokanalstrukturen zu erzeugen, es bestehen jedoch nicht alle 4 Wände der Kanäle aus demselben Material. Weiterhin erlauben sie nicht die Integration von Elektroden, welche direkten Kontakt zum Medium in den Kanälen haben, wenn gleichzeitig alle vier Seiten eines Kanals aus demselben Material bestehen.

In EP 0 767 257 ist ein Verfahren zur Integration von Elektroden in Mikrostrukturen beschrieben, doch erlaubt dieses Verfahren nicht eine flüssigkeitsisolierte Kontaktierung, da zum photochemischen Abscheiden des Metalles in den Kanälen diese mit Metallsalzlösungen gespült werden müssen.

Eine Methode zur Integration von Elektroden an beliebigen Stellen innerhalb eines mikrostrukturierten Kanals mit der Möglichkeit zur flüssigkeits-

isolierten Kontaktierung der Elektroden wurde von Fielden et al. (P.R.-
Fielden, S.J. Baldock, N.J. Goddard, L.W. Pickering, J.E. Prest, R.D.
Snook, B.J.T. Brown, D.I. Vaireanu, „A miniaturized planar isotacho-
phoresis separation device for transition metals with integrated conductivity
5 detection“, Proceedings Micro Total Analysis Systems '98, 323-326, Banff,
Canada) beschrieben. Die Autoren haben eine mikrofluidische Kanal-
struktur in Silikon (PDMS) abgeformt und drücken diese mechanisch gegen
eine mit Elektroden (Kupfer) versehene Platine. Die Kanäle werden somit
durch zwei unterschiedliche Materialien begrenzt. Um die resultierenden
10 Kanäle geschlossen zu halten, muß ein konstanter mechanischer Druck
aufrechterhalten werden. Durch den Druck auf das Silikonkissen treten in
diesem System leicht Verformungen der Kanalstrukturen auf. Auch hier
besteht mindestens eine Seitenwand der Kanalstruktur aus einem zweiten
Material.

15 Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es deshalb, ein verbessertes
~~mikrofluides Analysensystem bereitzustellen, dessen Substrat und Deckel~~
aus polymeren organischen Materialien bestehen und fest miteinander
verbunden sind und in das an jeder beliebigen Stelle Elektroden mit
20 Möglichkeiten zur flüssigkeitsisolierten Kontaktierung eingebracht werden
können. Falls Elektroden in das Analysensystem integriert werden sollen,
besteht eine zusätzliche Aufgabe darin, daß die Elektroden an jeder
beliebigen Stelle im Kanalsystem integriert werden können und nicht durch
das Bondingverfahren beschädigt oder abgelöst werden.

25 Es wurde gefunden, daß die Kombination eines neuen Verfahrens zur
Herstellung hafter Edelmetallschichten auf Kunststoffoberflächen mit
einer speziellen Bonding-Technik zum Zusammenfügen zweier Kunststoff-
bauteile es ermöglicht, mikrofluide Analysensysteme, genauer
30 Durchflußeinheiten für mikrofluide Analysensysteme, mit den im Stand der
Technik und in der Aufgabenstellung diskutierten Eigenschaften
herzustellen.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher ein Verfahren zur Herstellung mikrostrukturierter Durchflußeinheiten für Analysensysteme, das im wesentlichen folgende Schritte umfaßt:

- 5 a) Bereitstellen mindestens eines Substrats und mindestens eines Deckels aus Kunststoff; von denen mindestens ein Bauteil mikrostrukturiert ist.
- b) Benetzen von entweder Substrat oder Deckel mit Klebstoff, wobei die Bereiche der Kanäle frei von Klebstoff bleiben;
- 10 c) Justieren der Bauteile;
- d) Zusammenpressen der Bauteile;
- e) Aushärten des Klebers.

15 Bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist es, in Schritt a) mindestens ein Bauteil einzusetzen, das mit Elektroden versehen ist.

20 Bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist es auch, die Justierung in Schritt c) mit Hilfe von aufgesputterten optischen Justagemarkern vorzunehmen.

25 Gegenstand der Erfindung ist weiterhin eine mikrostrukturierte Durchflußeinheit für Analysensysteme, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurde.

Bevorzugte Ausführungsform der erfindungsgemäßen Durchflußeinheit ist ein System, das Elektroden aufweist, die in freiem Kontakt zum Inneren des Kanalsystems stehen.

30 Bevorzugte Ausführungsform der erfindungsgemäßen Durchflußeinheit ist ein System, das Elektroden mit einer Haftschrift aus Chromoxid und einer Schicht aus Edelmetall aufweist.

Abbildung 1 zeigt beispielhaft eine mögliche Struktur zweier Bauteile einer Durchflußeinheit.

5 Abbildung 2 und 3 zeigen zwei Möglichkeiten für die Kontaktierung der Elektroden.

In Abbildung 4 ist ein Bauteil mit optischen Justagemarken dargestellt.

10 Die Abbildungen 5 bis 11 werden in den Beispielen näher erläutert.

15 Mikrofluide bzw. mikrostrukturierte Analysensysteme bestehen in der Regel aus einer Durchflußeinheit, die zumindest das Kanalsystem sowie optional Aussparungen zur Integration peripherer Einrichtungen aufweist, und peripheren Einrichtungen, wie Detektoren, Fluidikanschlüssen, Vorratsgefäßen, Reaktionskammern, Pumpen, Steuervorrichtungen etc.,
~~die in die Durchflußeinheit integriert bzw. daran angeschlossen werden~~
können. Als Durchflußeinheiten für mikrofluide Analysensysteme mit Meß- und Steuervorrichtungen zur elektrischen Leitfähigkeit gelten erfindungs-
20 gemäß Systeme, in denen durch Zusammenfügen von mindestens zwei Bauteilen, wie z.B. Substrat und Deckel, Mikrokanalstrukturen erzeugt werden, die flüssigkeits- und/oder gasdicht verschlossen werden können. Substrat und Deckel sind dazu fest miteinander verbunden. Zusätzlich
25 können diese Systeme an jeder beliebigen Stelle des Kanalsystems Elektroden enthalten, die in freiem Kontakt zum Inneren des Kanals stehen, d.h. in das Kanalsystem hineinragen. Die Erfindung betrifft daher mikrostrukturierte Durchflußeinheiten für Analysensysteme, in einem weiteren Sinne also mikrostrukturierte Analysensysteme.

30 Die mikrofluiden Analysensysteme können durch Variation verschiedener Parameter, wie beispielsweise der Kanalstruktur, dem Anschluß von anderen Systemen, wie Pumpen, Zuleitungen etc., beliebiger Anordnung

der Elektroden usw. für unterschiedliche Anwendungen angepasst werden. Besonders bevorzugt sind die erfindungsgemäßen Durchflußeinheiten für Analysensysteme für Anwendungen im Bereich der elektrophoretischen Trennung und Analyse, beispielsweise für Kapillarelektrophorese oder Isotachophorese sowie für mikropräparative Synthesen oder Derivatisierungen von Stoffen.

Die Detektion der Analyten kann nach Austritt aus dem Analysensystem oder direkt im System, d.h. in der Durchflußeinheit, erfolgen. Bevorzugt sind in die Durchflußeinheit integrierte optische oder elektrochemische Detektionsmöglichkeiten. Eine elektrochemische Detektion erfolgt mit geeignet beschaffenen und positionierten Elektroden.

Zum Einkoppeln bzw. Auskoppeln von optischer Leistung in bzw. aus einem Kanal werden überwiegend Verfahren verwendet, bei denen optische Fasern direkt vor einer Glaskapillare (z.B. „klassische CE“) positioniert werden. Für die Laser-induzierte Fluoreszenzmessung (LIF) in mikrostrukturierten Kanälen in planaren zweidimensionalen Systemen haben sich Verfahren etabliert, bei denen das anregende Laserlicht auf den Kanal über eine Freistrahloptik fokussiert wird und die Fluoreszenz über ein freistrahloptisches System (Mikroskop, evtl. konfokal, mit optischem Detektor, z.B. CCD-Kamera) detektiert wird.

Die Bauteile der Durchflußeinheit der Analysensysteme bestehen bevorzugt aus kommerziell erhältlichen thermoplastischen Kunststoffen, wie PMMA (Polymethylmethacrylat), PC (Polycarbonat), Polystyrol oder PMP (Polymethylpenten), cycloolefinischen Copolymeren oder duroplastischen Kunststoffen, wie beispielsweise Epoxidharzen. Bevorzugterweise bestehen alle Bauteile, d.h. Substrate und Deckel, einer Durchflußeinheit aus demselben Material.

Die Bauteile können nach dem Fachmann bekannten Methoden hergestellt werden. Bauteile, die Mikrostrukturen enthalten, können beispielsweise durch etablierte Verfahren, wie Heißprägen, Spritzguß oder Reaktionsguß, produziert werden. Besonders bevorzugt werden Bauteile eingesetzt, die nach bekannten Techniken zur Massenproduktion vervielfältigt werden können. Mikrostrukturierte Bauteile können Kanalstrukturen mit Querschnittsflächen zwischen 10 und 250000 μm^2 besitzen.

Die Elektroden, die in die erfindungsgemäßen Durchflußeinheiten eingebracht sind, werden typischerweise für die Generierung eines Flusses von Ionen oder für Detektionszwecke eingesetzt. Sie müssen eine hinreichende Haftfestigkeit auf den Kunststoffbauteilen aufweisen. Dies ist sowohl für das Zusammenfügen der einzelnen Bauteile als auch für den späteren Einsatz der Analysensysteme von Bedeutung.

Für die Wahl des Elektrodenmaterials ist vor allem die geplante Verwendung des Analysensystems ausschlaggebend. Da Systeme mit Mikrokanalstrukturen und integrierten Elektroden im wesentlichen im Bereich der Analytik zur Anwendung kommen, sollten die Elektroden aus chemisch inerten Materialien, wie z.B. Edelmetallen (Platin, Gold) bestehen.

Die Wahl derartiger Materialien und Methoden zur Aufbringung sind dem Fachmann bekannt. Typischerweise erfolgt die Metallisierung von Kunststoffoberflächen durch elektrochemisches Abscheiden von Metallen aus Metallsalzlösungen. Hierfür ist es allgemein üblich, in einem mehrstufigen Prozeß zunächst die Kunststoffoberfläche chemisch oder mechanisch vorzubehandeln, einen diskontinuierlichen Primer aufzubringen und abschließend die elektrochemische Abscheidung durchzuführen. Beschreibungen dieser Metallisierungstechniken finden sich z.B. in US 4,590,115, EP 0 414 097, EP 0 417 037 und bei Wolf und Gieseke (G.D. Wolf, H. Gieseke, „Neues Verfahren zur ganzflächigen und partiellen

Metallisierung von Kunststoffen," *Galvanotechnik* 84, 2218-2226, 1993).
Den naßchemischen Verfahren gemeinsam ist, daß relativ aufwendige
Vorbehandlungsprozesse notwendig sind, um ausreichende
Haftfestigkeiten zu erreichen.

5

In DE 196 02 659 wird das haftfeste Aufbringen von Kupfer auf mehr-
phasige Polymermischungen mittels Aufdampfen oder Sputtern
beschrieben. Als Ursache der guten Haftung wird die Zusammensetzung
der Polymermischungen genannt. Demnach müssen die Mischungen
10 Polyarylsulfide, Polyimide oder einen aromatischen Polyester enthalten.

15

Der Einfluß von Plasmavorbehandlungen zur Erzielung besserer Haft-
eigenschaften von Metallen auf Kunststoffoberflächen wird von Friedrich (J.
Friedrich, „Plasmabehandlung von Polymeren“, *kleben & dichten* 41, 28-33,
1997) am Beispiel verschiedener kommerziell erhältlicher Thermoplaste
zusammengefaßt. Allgemeines Ziel der Plasmavorbehandlung ist es, polare
~~funktionelle Gruppen an der Polymeroberfläche zu generieren, so daß eine~~
erhöhte Haftfestigkeit metallischer Schichten resultiert. Beispielhaft wird die
Wirkung von Chrom als Haftschrift bei der Metallisierung von Kunststoffen
20 beschrieben. Als Ursache der guten Haftung von Chrom z.B. wird eine
Wechselwirkung polarer Gruppen, wie z.B. Carbonyl- oder Estergruppen,
mit 3d-Orbitalen des Chroms genannt.

20

Besonders bevorzugt werden die Elektrodenstrukturen auf den Kunststoff-
25 bauteilen mittels einer Zwei-Schicht-Technik erzeugt. Dazu wird
erfindungsgemäß zunächst eine haftvermittelnde Schicht aus Chromoxid
erzeugt. Es zeigte sich, daß Chromoxid im Gegensatz zu Edelmetallen
hervorragende Hafteigenschaften auf Kunststoffoberflächen besitzt. Zudem
ist Chromoxid im Gegensatz zu elementarem Chrom und anderen
30 Übergangsmetallen wesentlich beständiger gegenüber Redoxprozessen.
Auf die Haftschrift aus Chromoxid wird dann das Edelmetall, wie
beispielsweise Platin oder dessen Legierungen oder Gold, aufgetragen.

30

Das selektive Aufbringen von Chromoxid und der darauf abzuscheidenden Edelmetallschicht auf Kunststoffsubstraten erfolgt bevorzugt im lift-off-Verfahren oder mittels der sogenannten Schattenmaskentechnik oder der Strukturierung von zunächst ganzflächig aufgetragenen metallischen Schichten. Diese Verfahrenstechniken sind Standardprozesse der Mikrostrukturtechnik. Im folgenden werden die für die Zwei-Schicht-Technik erforderlichen Arbeitsschritte für die genannten Verfahren kurz beschrieben.

Lift-off-Verfahren: Das selektiv zu metallisierende Kunststoffbauteil wird mit einem Photolack beschichtet. Dieser Photolack darf dabei das zu metallisierende Kunststoffteil nicht bzw. nur leicht anlösen. Für PMMA, PS und PC hat sich z.B. ein Photolack der Firma Allresist, Berlin (AR 5300/8) als geeignet erwiesen. Nach Belichtung und Entwicklung der zu metallisierenden Strukturen erfolgt das Aufbringen der metallischen Schichten in einer Sputteranlage. Das Aufbringen der Chromoxidschicht erfolgt während des Sputterprozesses durch das Einleiten von Sauerstoff in das typischerweise verwendete Argon-Plasma der Sputteranlage. Als Sputtertarget wird ein konventionelles Chrom-Target verwendet. Typische Chromoxid-Schichtdicken sind 10-50 nm. Alternativ kann direkt ein Chromoxid-Target eingesetzt werden. Das Sputtern von Platin bzw. dessen Legierungen oder von Gold wird direkt anschließend unter Standardbedingungen, d.h. im Argon-Plasma, durchgeführt. Als vorteilhaft für die Haftfestigkeit der Chromoxidschicht hat sich außerdem ein vor dem Sputtern des Chromoxids durchgeführtes Rückputtern des Kunststoffs in einem Sauerstoff/Argon (ca. 5 Vol% / 95 Vol%) Plasma erwiesen. In dem eigentlichen lift-off-Prozeß wird der noch vorhandene Photolack und mit diesem die auf dem Lack befindliche Metallschicht in einem Entwickler der Firma Allresist (AR 300-26) von dem Kunststoffbauteil abgelöst.

Schattenmaskentechnik: Das selektiv zu metallisierende Kunststoffteil wird mit einer sogenannten Schattenmaske abgedeckt. Diese hat an den zu metallisierenden Bereichen Aussparungen. Durch diese hindurch werden die Metallschichten in Analogie zum lift-off-Verfahren aufgesputtert. Der Vorteil dieses Verfahrens ist die deutlich einfachere Durchführung, da die Photolack-Prozessierung entfällt. Die Haftfestigkeit der Elektroden ist mit der lift-off-Technologie vergleichbar.

Strukturierung flächiger metallischer Schichten: Auf einem selektiv zu metallisierenden Kunststoffteil wird zunächst ganzflächig eine Metallschicht in Analogie zum bereits beschriebenen Sputterprozeß aufgebracht. Diese wird in nachfolgenden Prozeßschritten, entweder durch selektiven Abtrag mittels z.B. Laserablation (Gold und Platin) oder z.B. durch selektives naßchemisches Ätzen, strukturiert. Zur Strukturierung mittels naßchemischem Ätzen wird auf die Metallschicht zunächst ein Photolack (Hoechst AG, Deutschland; AZ 5214) aufgebracht, belichtet und entwickelt. ~~Gold wird dann in Cyanid-Lösung in den belichteten Bereichen abgelöst.~~ Die elektrisch nicht leitende Chromoxid-Schicht bleibt zurück. Abschließend wird der verbliebene Photolack mit einem Entwickler (z.B. AR 300-26, Fa. Allresist, Berlin) abgelöst.

Die Haftfestigkeit von mit Chrom als auch mit Chromoxid als Haftschrift mittels Sputtertechnik hergestellten Elektroden wurde mit Hilfe von Abreißtests überprüft. Die Haftfestigkeit der Chromoxidschichten ist deutlich größer. Auch bei Ultraschallbehandlung in alkalischer Lösung sind die Metallschichten, welche mit Chromoxid als Haftschrift hergestellt wurden, verglichen mit Metallschichten, die mit Chrom als Haftschrift hergestellt wurden, deutlich beständiger.

Nach Produktion und Vorbereitung der einzelnen Bauteile werden diese nach dem erfindungsgemäßen Verfahren zusammengefügt. Bevorzugterweise ist ein Bauteil, das Substrat, mikrostrukturiert und mit rückseitigen

Bohrungen bzw. Aussparungen zum Befüllen der Kanäle und/oder Kontaktieren der Elektroden versehen. Desweiteren hat sich auch die Verwendung einer sogenannten Dichtlippe, d.h. einer die Kanalstrukturen vollständig umschließenden Erhebung auf den Substraten mit Höhen
5 zwischen typischerweise 0,5 bis 5 μm , hinsichtlich des Verklebeprozesses als sehr vorteilhaft erwiesen. Das andere Bauteil, der Deckel, dient zur Abdeckung und ist z.B. bei elektrophoretischen Analysensystemen mit den Elektroden versehen. In diesem Fall wird der Deckel erfindungsgemäß als Elektrodendeckel bezeichnet. Da sich das erfindungsgemäße Verfahren
10 nicht nur auf die Herstellung der Meß- und Steuervorrichtung der Analysensysteme bezieht, können bestimmte Anwendungen der Systeme eine von dieser bevorzugten Anordnung abweichende Funktionalisierung der Bauteile erfordern. In diesem Fall können beispielsweise mehr als zwei Bauteile, z.B. zwei Deckel und ein Substrat etc, zusammengefügt werden,
15 um übereinander liegende Kanalstrukturen zu erzeugen, oder weitere Funktionalitäten, wie Detektionssysteme, Reaktionskammern etc., in die Bauteile integriert werden. Erfindungsgemäß werden alle Teile der Durchflußeinheit des Analysensystems, die mittels eines Bondingverfahrens zusammengefügt werden, als Bauteile bezeichnet. Sie
20 können mikrostrukturiert sein, mit Elektroden versehen sein oder andere Funktionalitäten aufweisen. Eine Unterteilung der Bauteile in Substrate und Deckel oder auch Elektrodendeckel, falls das entsprechende Bauteil mit Elektroden versehen ist, dient lediglich der näheren Beschreibung der Ausführungsform der speziellen Bauteile und stellt keine Einschränkung
25 bezüglich weiterer Eigenschaften der Bauteile, wie Mikrostrukturierung etc., oder deren Kombination untereinander dar.

In einer bevorzugten Ausführungsform besteht das Analysensystem aus zwei Bauteilen. Ein Bauteil, z.B. das Substrat, ist mikrostruktuiert und weist
30 das Kanalsystem und sonstige Aussparungen zum Anschluß weiterer Funktionalitäten, wie z.B. Fluidikanschlüssen auf. Dieses Bauteil wird mittels eines Spritzgußverfahrens hergestellt. Die Bohrungen zum Befüllen

der Kanäle und/oder Kontaktieren der Elektroden werden hierbei direkt durch entsprechende Ausbuchtungen in der Gußform erzeugt.

5 Das zweite Bauteil, in diesem Fall ein Elektrodendeckel, weist keinerlei Mikrostrukturierung auf. Statt dessen sind auf diesem Bauteil alle Elektroden angeordnet. Durch diese Aufteilung wird die Herstellung der beiden Bauteile stark vereinfacht. Es ist nicht notwendig, das im Spritzgußverfahren hergestellte mikrostrukturierte Bauteil weiteren Verarbeitungsschritten zu unterziehen. Das Aufputtern der Elektroden
10 erfolgt auf das flache, nicht strukturierte Bauteil.

Das Zusammenfügen der Bauteile erfolgt erfindungsgemäß mit hoher Präzision. Wichtig für die analytische Leistung ist, daß keine der Wände stark reaktiven d.h unpolymersierten oder geschmolzenen Kunststoff
15 enthält. Das bedeutet, der Klebstoff darf nicht in die Kanäle hineinlaufen und deren Oberfläche bedecken, da dies die Oberflächeneigenschaften der Kanäle verändern kann. ~~Es wurde gefunden, daß dies beispielsweise zu~~ verstärkter Adhäsion von Analyten, wie z.B. Proteinen, an den Kanalbereichen führt, die mit Klebstoff benetzt sind. Dies wiederum
20 beeinflußt die Trennqualität der Analysensysteme. Genauso beeinträchtigt das Verkleben der Elektroden mit Klebstoff deren Funktionsfähigkeit.

Weiterhin ist es von großer Bedeutung, daß das Volumen der Kanäle nicht verändert wird, wie dies beispielsweise durch das unkontrollierte Einfließen
25 von Klebstoff geschehen würde. Erfindungsgemäß wird der Kanal zur Verbesserung der Detektionsempfindlichkeit bevorzugt in der Umgebung der Detektionselektroden verengt. Dadurch ist es gerade in diesen Bereichen wichtig, daß kein Klebstoff in den Kanal gelangt.

30 Zum Zusammenfügen der Bauteile wird erfindungsgemäß bevorzugt zunächst auf das mikrostrukturierte Bauteil an den Stellen, an denen keine Strukturierung vorliegt, ein Klebstoff aufgebracht. Die Schichtdicke beträgt

zwischen 0,5 und 10 μm , bevorzugt zwischen 3 und 8 μm . Typischerweise erfolgt die Auftragung mittels einem aus der Drucktechnik bekannten flächigen Walzenautrag.

- 5 In einer bevorzugten Ausführungsform wird hierzu über eine strukturierte metallische Rasterwalze, die ein definiertes Volumen an Klebstoff aufnimmt, ein dünner Klebstofffilm auf eine zweite nicht strukturierte Walze, die mit einem Polymer beschichtet ist, aufgetragen. Von dieser wiederum erfolgt der Auftrag direkt auf das strukturierte Substrat in der Weise, daß
- 10 sich bevorzugt eine Klebstoffdicke zwischen 3 und 8 μm auf der nicht strukturierten Oberfläche des Substrates ergibt. Je nach verwendetem Kunststoff (Substratmaterial) wird der Übertrag zwischen der Kunststoffwalze und dem Substrat durch eine eventuelle Viskositätssteigerung des Klebstoffes (Vorpolymerisation) beeinflusst. Ein bedeutender Vorteil dieses
- 15 Verfahrens ist, daß das Substrat relativ zu der den Klebstoff auftragenden Walze nicht positioniert werden muß und trotzdem Klebstoff ausschließlich nur in den nicht strukturierten Bereichen des Substrates aufgebracht ist. Wird zuviel Klebstoff aufgetragen, wird beim Zusammenpressen von Deckel und Substrat Klebstoff in den Kanal einfließen. Ist partiell
- 20 unzureichend Klebstoff aufgetragen worden, resultieren Undichtigkeiten der Kanalstruktur. Dieses Verbindungsverfahren erfordert eine Ebenheit der Bauteile von bevorzugt kleiner ca. 5 $\mu\text{m}/\text{cm}$ Bauteillänge.

- 25 Der verwendete Klebstoff darf die Oberfläche der Bauteile nicht oder nur sehr schwach anlösen, damit die Elektroden beim Verklebungsprozeß nicht vom Klebstoff abgelöst oder unterbrochen werden. Bevorzugterweise wird daher als Klebstoff das Produkt NOA 72, Thiolacrylat der Firma Norland, New Brunswick NJ, USA verwendet. Dieser Kleber wird photochemisch ausgehärtet. Es können jedoch für das Verfahren auch andere Arten von
- 30 Klebern, wie z.B. thermisch härtende Kleber, verwendet werden, die die oben genannten Voraussetzungen erfüllen.

Nach dem Aufbringen des Klebstoffs wird das zweite Bauteil mit den Dünnschichtelektroden beispielsweise auf einer Belichtungsmaschine zu dem Substrat geeignet positioniert und aufgepreßt. Hierzu wird bevorzugt das Substrat mit dem aufgetragenen Klebstoff in der Belichtungsmaschine in der sonst für Silizium-Wafer vorgesehenen Position fixiert. Bevorzugt ist die Verwendung von starken Glasplatten als Preßfläche, da so direkt die Positionierung und die photochemische Härtung des Klebers durch Bestrahlung mit einer Hg-Lampe (Emissionswellenlänge 366 nm) durchgeführt werden kann. Der Elektrodendeckel wird in der für die Belichtungsmaske vorgesehenen Position fixiert, indem er mit einer Glasplatte eingefrästen Vakuumvorrichtung gehalten wird. Da sowohl der Elektrodendeckel als auch die zur Halterung des Deckels verwendete Glasplatte transparent sind, kann durch diese Anordnung hindurch der Deckel bezüglich des Substrates justiert werden. Falls der Deckel über das Substrat hinausragt, kann dieser auch mechanisch gehalten werden.

Die Positionierung des Deckels auf dem Substrat kann für den Klebevorgang typischerweise neben einer optisch mechanischen Justage unter Zuhilfenahme von optischen Justagemarken auch passiv mechanisch mit Hilfe einer Einrastvorrichtung, optisch mechanisch ohne besondere Justagemarken oder elektrisch mechanisch mit Hilfe von elektrischen Marken (Kontakten) erfolgen.

In Abbildung 4 ist ein Bauteil mit erfindungsgemäß bevorzugten optischen Justagemarken in den Ecken für die optisch mechanische Justage dargestellt. Zusätzlich sind Elektroden (schwarz) und eine Kanalstruktur zu sehen. Es wurde gefunden, daß die metallischen Justagemarken auf dem Deckel in demselben Prozeßschritt mit den Elektroden aufgebracht, d.h. bevorzugt aufgesputtert, werden können, d.h. es ist kein Mehraufwand notwendig. Auch die entsprechenden Gegenstrukturen auf dem Substrat erfordern keine zusätzliche Prozessierung, da diese gemeinsam mit den Kanalstrukturen in einem Abformschritt in das Substrat eingebracht werden.

Für die optisch mechanische Justage muß zumindest ein Bauteil aus einem transparenten Kunststoff bestehen. Mit Hilfe der erfindungsgemäß aufgetragenen Justagemarken werden die beiden Bauteile mit einer Genauigkeit von mindestens $\pm 10 \mu\text{m}$, typischerweise sogar $\pm 2 \mu\text{m}$ (z.B. Soll- zu Ist-Position der Detektorelektrode) zueinander positioniert und zusammengepreßt. Die hohe Positioniergenauigkeit unterstützt die Realisierung reproduzierbarer Analyseergebnisse. Nun wird mit einer UV-Lampe der Klebstoff polymerisiert. Nach dem Abschalten des Vakuums für die Deckelhalterung bzw. Lösen der mechanischen Fixierung wird die Durchflußeinheit aus der Belichtungsmaschine entnommen.

In einer anderen bevorzugten Ausführungsform wird ein Bauteil mittels eines in der Drucktechnik bekannten Verfahren (Tampon-Druck) mit Klebstoff versehen. Das mit den Elektroden versehene Bauteil wird dazu auf den Bereichen, die beim Zusammensetzen der beiden Bauteile nicht über einem Kanal liegen oder elektrisch kontaktiert werden müssen mit dem Kleber benetzt. Mikrostrukturierte Bauteile werden so benetzt, daß kein Klebstoff in die Kanalstruktur oder sonstige Aussparungen gelangt. Bei dem Tampon-Druck handelt es sich um einen strukturierten Kleberauftrag. In einer Negativform des Substrates wird Klebstoff bevorratet. Durch ein typischerweise Silikonkissen wird dieser Klebstoff strukturiert aufgenommen und z.B. auf den Deckel so aufgebracht, daß die Bereiche, die später eine Wand eines Fluidikkanals bilden, nicht mit Klebstoff benetzt werden. Das Bauteil mit den Kanalstrukturen wird anschließend, wie bereits beschrieben, geeignet zu seinem Gegenstück positioniert und aufgepreßt. Die Aushärtung erfolgt wie oben beschrieben.

Auch ein strukturierter Kleberauftrag mittels Sprühtechniken (z.B. microdrop-Verfahren) oder unter Verwendung der Siebdrucktechnik ist möglich, sofern die laterale Auflösung des Kleberauftrags ausreicht.

Unter Aufpressen des zweiten Bauteils bzw. Zusammenpressen der Bauteile ist erfindungsgemäß zu verstehen, daß die Bauteile geeignet miteinander in Kontakt gebracht werden. Um nach der Aushärtung eine dauerhafte Verbindung der Bauteile zu erzielen, ist es zumeist nicht
5 notwendig, eine große Kraft auszuüben, d.h. die Bauteile sehr stark aufeinander zu pressen.

Wird der Aushärteprozeß des Klebers außerhalb der zur Positionierung von Deckel und Substrat verwendeten Justagevorrichtung durchgeführt, können
10 der metallisierte Deckel und das Substrat, nachdem sie zueinander justiert wurden, mittels Laserschweißen zunächst geheftet werden. Hiernach wird der Verbund aus der Justagevorrichtung genommen und in einer separaten Belichtungsappatur oder einem Ofen wird der verwendete Klebstoff ausgehärtet. Diese Vorgehensweise bedeutet eine Prozeßbeschleunigung
15 und Vereinfachung, da das Aushärten nicht mehr in der Justagevorrichtung erfolgen muß.

Da die bevorzugterweise verwendeten thermoplastischen Materialien für Laserlicht im sichtbaren und nahinfraroten Wellenlängenbereich
20 weitestgehend transparent sind, erfordert das Laserschweißen in diesem Wellenlängenbereich eine Absorberschicht zum Absorbieren der optischen Leistung an der Grenzfläche zwischen Deckel und Substrat. Diese Absorberschicht wird gleichzeitig mit dem Aufbringen der Leistungs- bzw. Detektorelektroden aufgebracht. Beispielsweise kann der Elektrodendeckel
25 beim Besputtern der Elektroden mit Edelmetall zusätzlich an weiteren Stellen mit einer Edelmetallschicht als Absorberschicht besputtert werden.

Das Verschweißen eines mit 200 nm dicken Platin-Elektroden versehenen Elektrodendeckels, der somit auch zusätzliche Platin-Flächen zum
30 Absorbieren der Laserleistung beinhaltet, mit einem Substrat (Basismaterial PMMA) erfolgt mit Diodenlaserstrahlung (Wellenlängengemisch aus 808, 940 und 980 nm) mit einer Leistung von 40 Watt bei einem

Fokusbildungsdurchmesser von 1,6 mm. Die Platin-Schicht wird beim Verschweißen zerstört.

Alternativ ist auch die Verwendung eines z.B. mit Rußpartikeln gefüllten Substrates oder Deckels als Absorber möglich. Diese letztgenannte Vorgehensweise, hat aber zum Nachteil, daß dann mindestens eine Kanalwand aus einem anderen Material besteht. Auch die Möglichkeiten, optische Leistung für optische Detektionszwecke in den Kanal ein- oder auszukoppeln, werden dadurch eingeschränkt.

Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht erstmals die Herstellung von geschlossenen Mikrokanalstrukturen, deren Wände aus einem Material bestehen, und in denen Elektroden an beliebigen Stellen innerhalb der Kanäle positioniert werden können. Strukturierte Bauteile (Substrate) können flüssigkeits- und gasdicht mit beispielsweise Elektrodendeckeln versehen werden. Durch die Verwendung zumeist kommerziell erhältlicher Kunststoffe und einfacher Verarbeitungsschritte können die

erfindungsgemäßen Analysensysteme kostengünstig und in großen Zahlen produziert werden. Durch das erfindungsgemäße Verfahren zum Zusammenfügen bzw. Bonden, werden die Bauteile so mit Klebstoff benetzt, daß nach dem Zusammenfügen kein Klebstoff in das Innere des Kanalsystems, d.h. in die Kanäle, die Wände oder auf in das Kanalsystem ragende Elektroden oder sonstige Vorrichtungen gelangt. Dadurch wird die Trennqualität und Analyseempfindlichkeit der Systeme verbessert. Die erfindungsgemäß hergestellten Durchflußeinheiten für Analysensysteme mit Meß- und Steuervorrichtung für elektrische Leitfähigkeit erfüllen alle Anforderungen, die an ein solches System gestellt werden müssen:

- Sie zeigen hohe Dimensions- und Volumenstabilität der Kanäle.
- Durch die Festigkeit der Klebeverbindungen sind sie im Inneren der Kanäle druckstabil.

- Es besteht eine große Variabilität bezüglich der verwendbaren Kunststoffe.
- Es können chemisch inerte Materialien für Bauteile und Elektroden verwendet werden.
- 5 • Alle vier Kanalwände bestehen bevorzugt aus dem gleichen Material.
- Die Elektroden sind auf $\pm 10 \mu\text{m}$ meist sogar auf $\pm 2 \mu\text{m}$ genau an beliebigen Stellen der Kanäle positionierbar.
- Die Kontaktflächen der Elektroden sind frei von Verunreinigungen durch Klebstoff.
- 10 • Die Elektroden können leicht angeschlossen werden.
- Die Systeme zeigen geringen Innenwiderstand und erlauben potentiell hohe Stromdichten.

15 Abbildung 1 zeigt beispielhaft die beiden funktionalisierten Bauteile eines mikrostrukturierten Analysensystems. Bauteil 1, der Elektrodendeckel, besitzt vier Elektroden (E) zur Generierung eines Ionenflusses und drei Elektroden (D) zur elektrischen oder elektrochemischen Detektion. Bauteil 2 ist mikrostrukturiert. Beim Zusammenfügen der beiden Bauteile treffen die Enden der Elektroden des Deckels genau in die Kanäle des Substrats.

20 Abbildung 2 und 3 zeigen zwei Möglichkeiten für die Kontaktierung der Elektroden.

25 In Abbildung 2 ragt der Deckel (1) mit der Elektrode (3) über das mikrostrukturierte Bauteil (2) mit der Klebeschicht (4) hinaus. Nach Zusammenfügen der beiden Bauteile kann die Elektrode über ihren außenliegenden Bereich (3b) kontaktiert werden.

30 In Abbildung 3 haben Deckel (1) und Substrat (2) die gleichen Dimensionen. Nach dem Zusammenfügen kann die Elektrode nicht seitlich kontaktiert werden. Statt dessen befindet sich im Substrat eine zusätzliche

Bohrung (5), über die die Elektrode (3) beispielsweise mittels eines Federstifts kontaktiert werden kann.

5 Auch ohne weitere Ausführungen wird davon ausgegangen, daß ein Fachmann die obige Beschreibung im weitesten Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen und Beispiele sind deswegen lediglich als beschreibende, keineswegs als in irgendeiner Weise limitierende Offenbarung aufzufassen.

10 Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten Anmeldungen, Patente und Veröffentlichungen, sowie der korrespondierenden Anmeldung DE 199 27 533, eingereicht am 16.06.1999, ist durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeführt.

15

20

25

30

Beispiele

Die folgenden Trennungen wurden mit einem Analysensystem entsprechend Abbildung 5 durchgeführt. Abbildung 5 zeigt das Kanalsystem mit den Kanalabschnitten K, den Reservoirs R, der Verzweigungsstelle V, den Fluidikanschlüssen F, sowie den Leitelektroden L und den Detektionselektroden D.

1. Nachweis von Benzoesäure in Tomaten-Ketchup

Es wurde eine zweistufige Trennung des Probenmaterials durchgeführt. Im ersten Schritt erfolgte eine isotachophoretische Trennung mit den Puffern TE und LE, im zweiten Schritt Kapillarelektrophorese mit den Puffern TE und CE.

Trennbedingungen:

LE (Leitelektrolyt):	10 mmol/l HCl + β -Alanine + 0.2 % Methylhydroxyethylcellulose, pH = 3.9
TE (Terminaler Elektrolyt):	10 mmol/l Propionsäure + ϵ -Aminocaprinsäure, pH = 4.7
CE (Kapillarelektrophoresepuffer):	10 mmol/l Propionsäure + ϵ -Aminocaprinsäure + 0.2 % Methylhydroxyethylcellulose, pH = 4.2

Strom 1: 8 μ A
Strom 2: 7 μ A

Probe:

Ketchup Tortex® (Polen)

Probenvorbereitung: 1 g Ketchup wird in 100 ml einer 0.1 mmol/l Natriumhydroxid-Lösung gegeben und 10 min im Ultraschallbad behandelt. Danach wird filtriert und entsprechend verdünnt.

5 Es wurden 10 µl Probe aufgegeben. Das Ergebnis der Trennung ist in den Abbildungen 6 und 7 dargestellt. Auf der Abszisse ist die Zeit in Sekunden angegeben, auf der Ordinate der Widerstand R. Abbildung 6 zeigt die Auftrennung nach dem ersten Trennschritt, der Isotachophorese. In Abbildung 7 ist das Ergebnis der Trennung durch Kapillarelektrophorese nach vorhergehender Isotachophorese dargestellt. Die obere Linie zeigt 10 500-fach verdünntes Ketchup, die untere Linie zeigt 500-fach verdünntes Ketchup nach einem Zusatz von 10 µmol/l Benzoesäure. Die mit B gekennzeichneten Peaks zeigen Benzoesäure. Die Fläche unter dem Peak hat gegenüber der oberen Kurve deutlich zugenommen.

15 Somit konnte gezeigt werden, daß die untere Nachweisgrenze für Benzoesäure in schwieriger Matrix deutlich unter 10 µmol/L liegt.

2. Analyse von Wein

Trennbedingungen:

20 LE: 10 mmol/l HCl + β-Alanin + 0.1 % Methylhydroxyethylcellulose,
pH = 2.9

TE 1: 5 mmol/l Capronsäure + Histidin, pH = 6.0

TE 2: 5 mmol/l Glutaminsäure + Histidin, pH = 5.0

25 In den Abbildungen 8 bis 10 ist die Auftrennung der folgenden Proben dargestellt. Auf der Abszisse ist die Zeit in Sekunden, auf der Ordinate der Widerstand R angegeben.

Abb. 8:

30 0.2 mmol/l Sulphat, Sulphit, Phosphat, Malonat, Tartrat, Citrat, Malat, Lactat, Gluconat, Aspartat, Succinat, Acetat, Ascorbat, Sorbat

Strom 1: 10 μ A

Strom 2: 10 μ A

5 Abb. 9:

20-fach verdünnter Weißwein + 0.25 mmol/l Aspartat

Strom 1: 20 μ A

Strom 2: 10 μ A

10

Abb.10:

20-fach verdünnter Rotwein + 0.25 mmol/l Aspartat

Strom 1: 20 μ A

15

Strom 2: 10 μ A

Die Nummerierung der Abbildungen 6 bis 8 gibt folgende Bestandteile an:

1 = Sulphat

2 = Sulphit

20

3 = Phosphat

4 = Malonat

5 = Tartrat

6 = Citrat

7 = Malat

25

8 = Lactat

9 = Gluconat

10 = Aspartat als interner Standard

11 = Succinat

12 = Ascorbat

30

13 = Acetat

14 = Sorbat

i = Verunreinigungen

3. Bestimmung von Glutamat in Suppenzubereitungen

5 Trennbedingungen:

LE: 10 mmol/l Histidinchloride + Histidin + 0.2 %

Methylhydroxyethylcellulose, pH = 6.1

TE: 8 mmol/l Morpholino-Ethansulfonsäure + Histidin, pH = 6

Strom 1: 10 mA

10 Strom 2: 10 mA

Proben:

1 – VITANA®-Brühe: 2500-fach verdünnt

2 - Gemüsesuppe KNORR®: 625-fach verdünnt

15 3 – Französische Suppe MAGGI®: 625-fach verdünnt

4 - Rinderbrühe KNORR®: 5000-fach verdünnt

5 - Gewürzmischung KOTÁNYI®: 1250-fach verdünnt

6 - Gulaschsuppe CARPATHIA®: 1250-fach verdünnt

20 7 - Gewürzmischung KNORR®: 2500-fach verdünnt

Die Analyse der Proben ist in Abbildung 11 dargestellt. Auf der Abszisse ist die Zeit in Sekunden, auf der Ordinate der Widerstand R angegeben.

G steht für Glutaminsäure.

25

30

Ansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Durchflußeinheiten für mikrostrukturierte Analysensysteme, dadurch gekennzeichnet, daß
 - 5 a) mindestens zwei Bauteile aus Kunststoff bereitgestellt werden, von denen mindestens ein Bauteil mikrostrukturiert ist;
 - b) mindestens ein Bauteil so mit Klebstoff benetzt wird, daß nach dem Zusammenfügen der Bauteile das Innere des Kanalsystems nicht mit Klebstoff belegt ist;
 - 10 c) die Bauteile justiert werden;
 - d) die Bauteile zusammengepresst werden;
 - e) der Kleber gehärtet wird.
2. Verfahren zur Herstellung von Durchflußeinheiten für mikrostrukturierte Analysensysteme nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß
 - 15 zumindest ein Bauteil für Schritt a) zuvor mit Elektroden versehen wird.
3. Verfahren zur Herstellung von Durchflußeinheiten für mikrostrukturierte Analysensysteme nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet,
 - 20 daß die Justierung in Schritt c) mit Hilfe von aufgesputterten optischen Justagemarkern vorgenommen wird.
4. Durchflußeinheit für ein mikrostrukturiertes Analysensystem hergestellt nach einem Verfahren entsprechend einem der Ansprüche 1 bis 3.
 - 25
5. Durchflußeinheit für ein mikrostrukturiertes Analysensystem nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchflußeinheit Elektroden aufweist, die in freiem Kontakt zum Inneren des Kanalsystems stehen.
 - 30
6. Durchflußeinheit für ein mikrostrukturiertes Analysensystem entsprechend einem der Ansprüche 4 oder 5, dadurch gekennzeichnet,

daß die Elektroden eine Haftschrift aus Chromoxid und eine Schicht aus Edelmetall aufweisen.

5

10

15

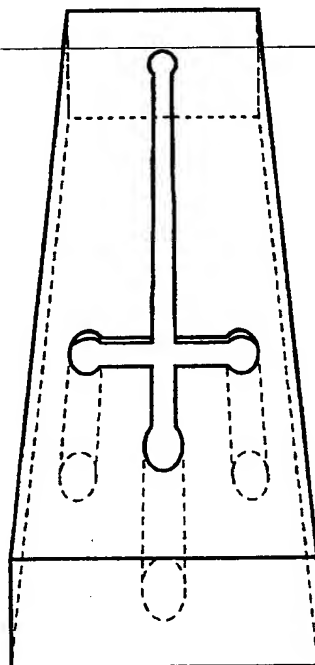
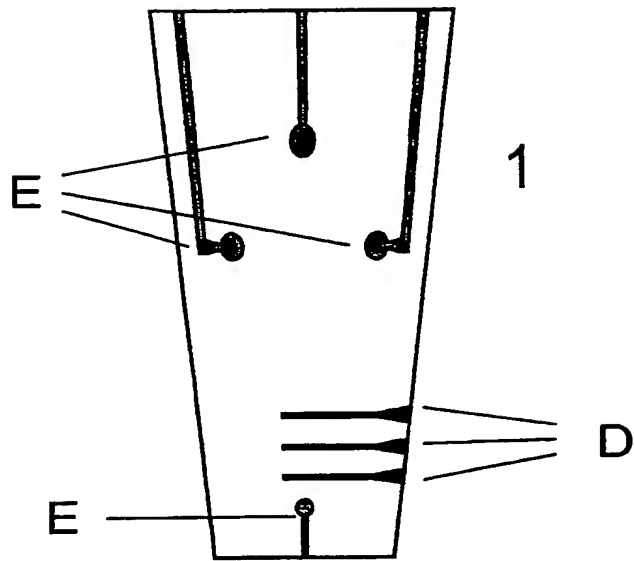
20

25

30

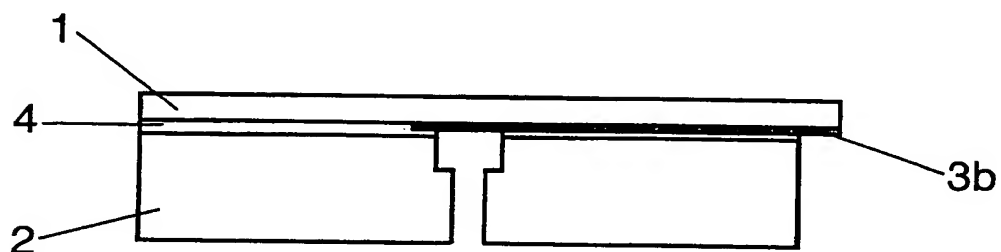
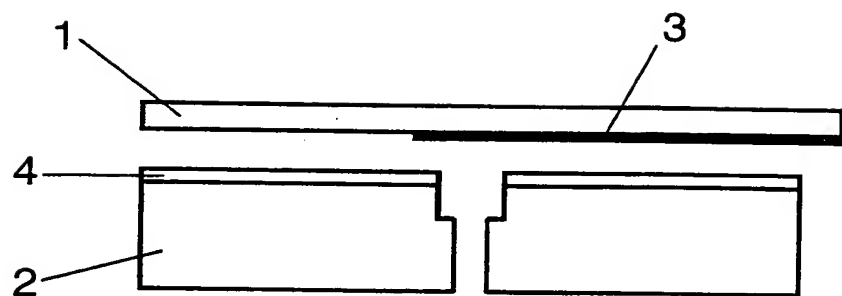
1/11

Fig. 1



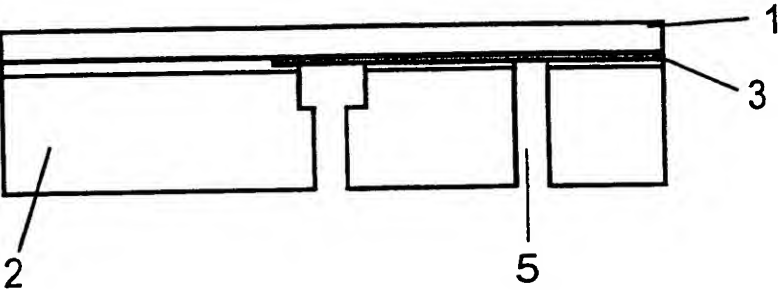
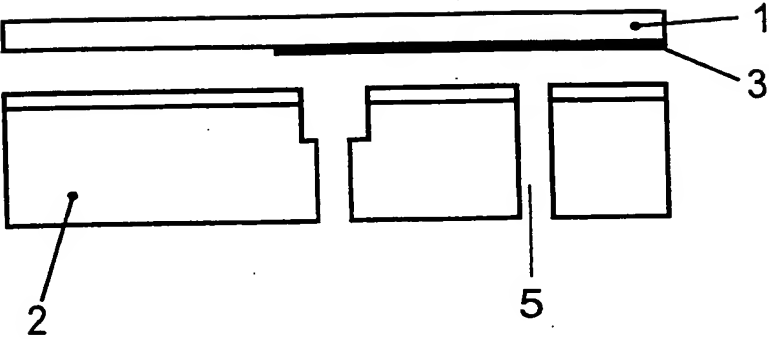
2/11

Fig. 2



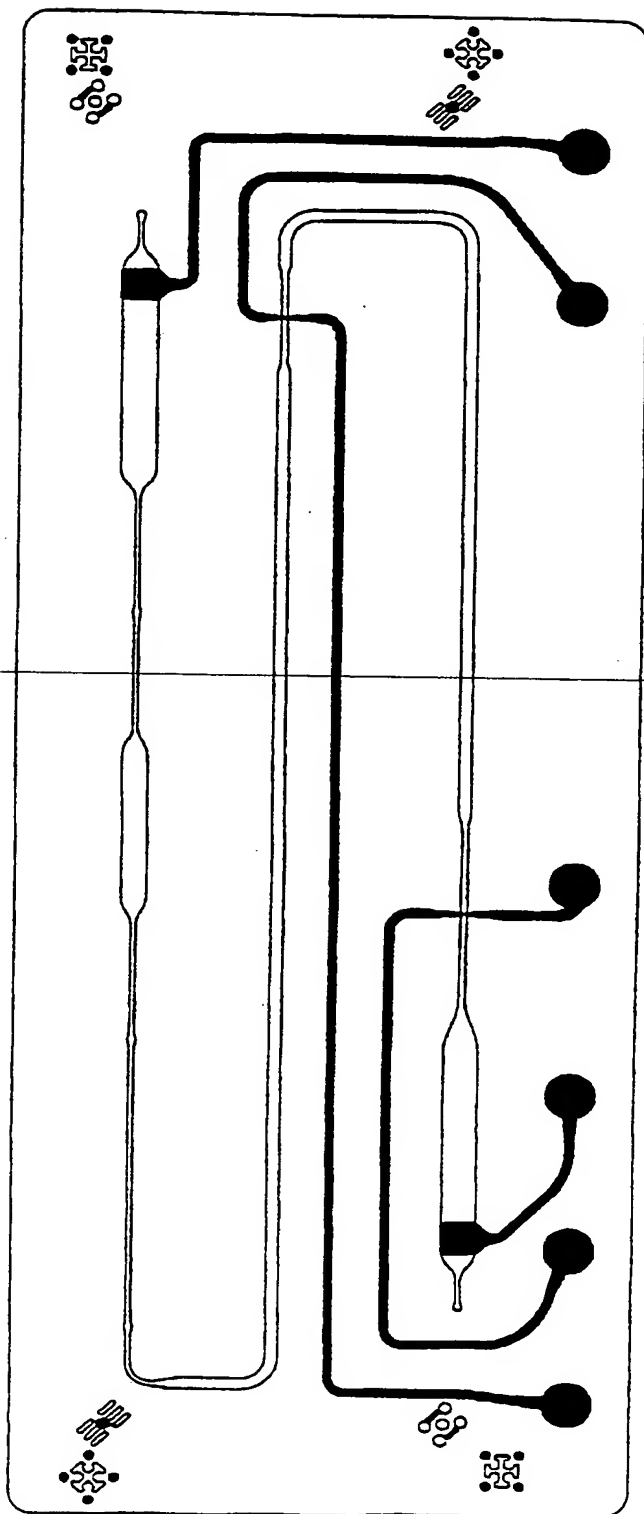
3/11

Fig. 3



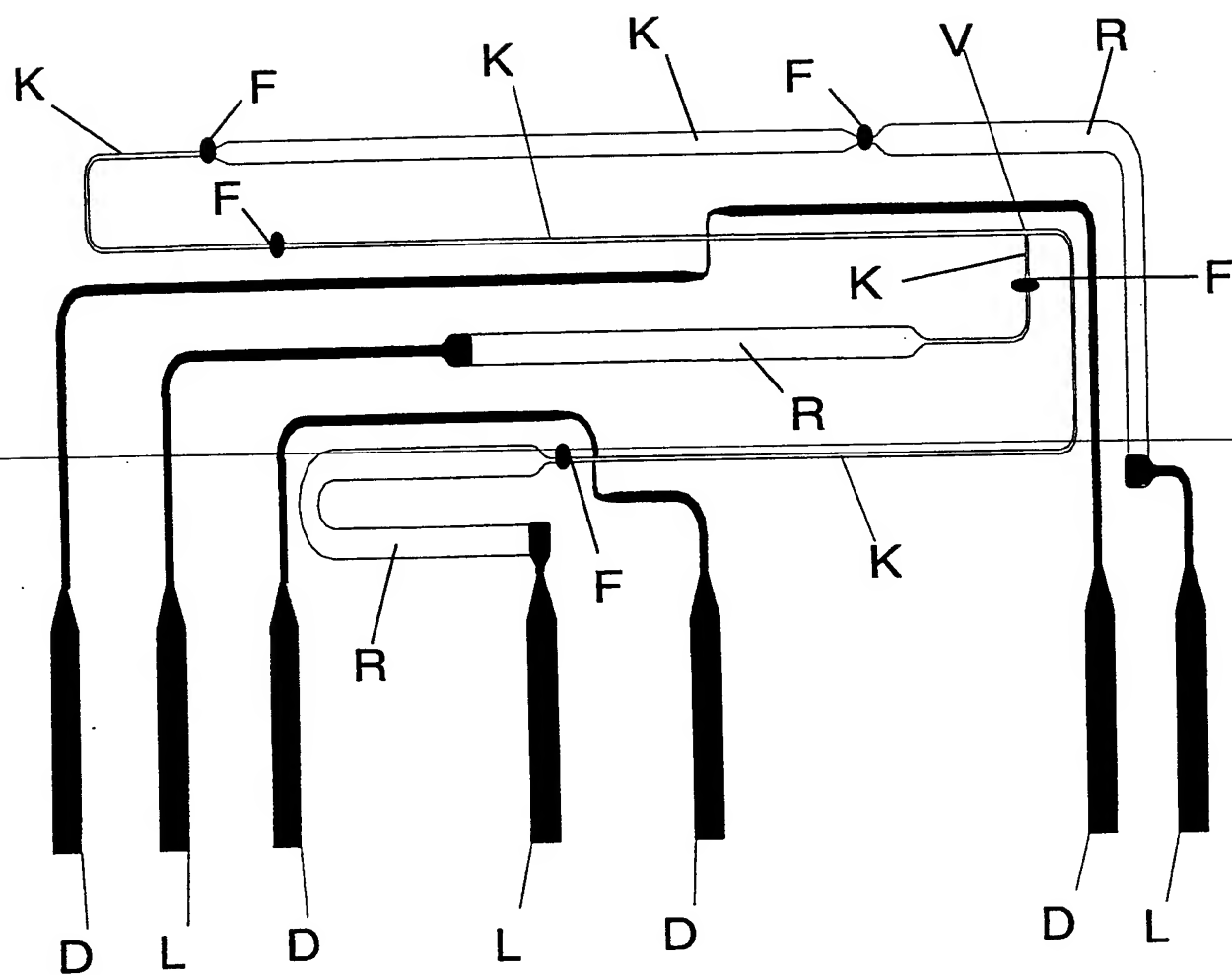
4/11

Fig. 4



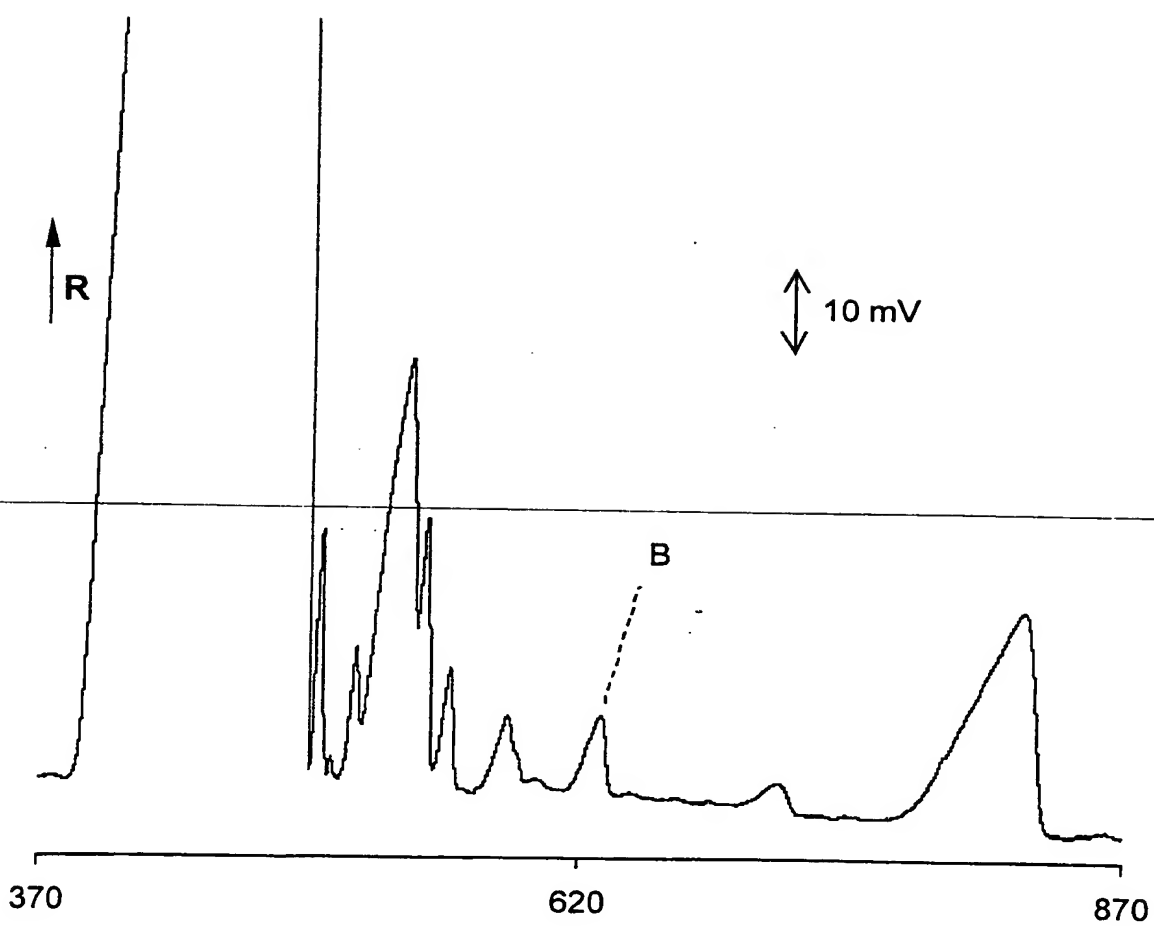
5/11

Fig. 5



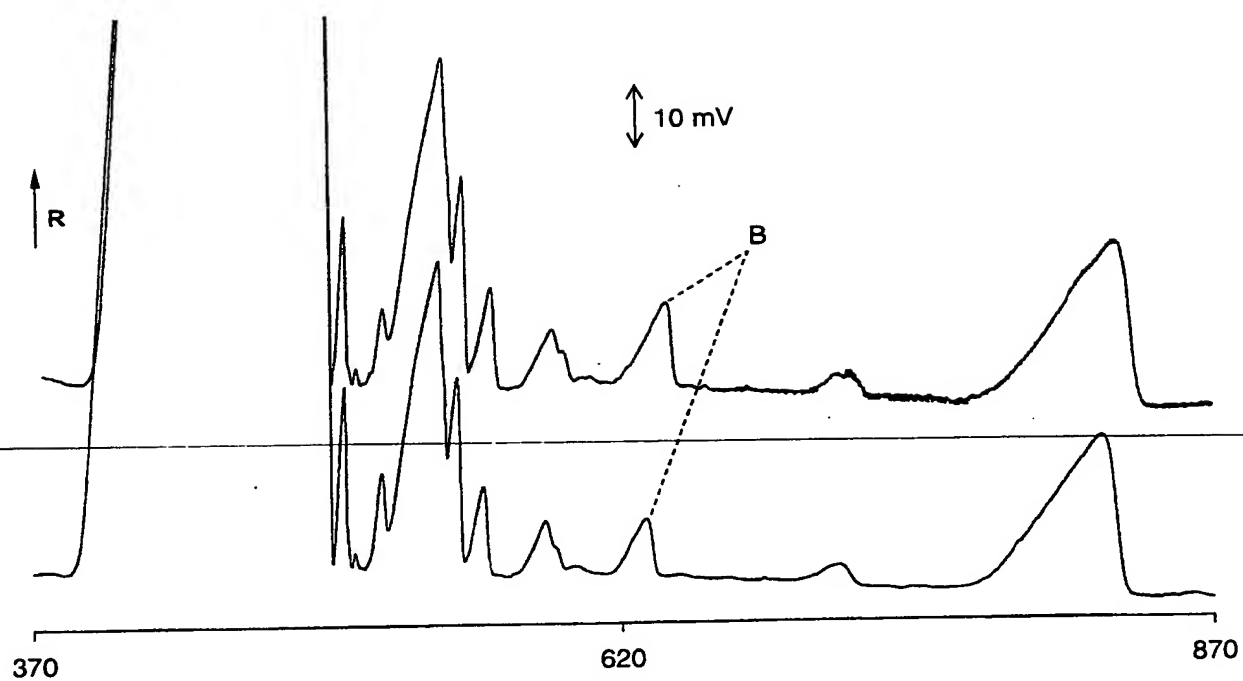
6/11

Fig. 6



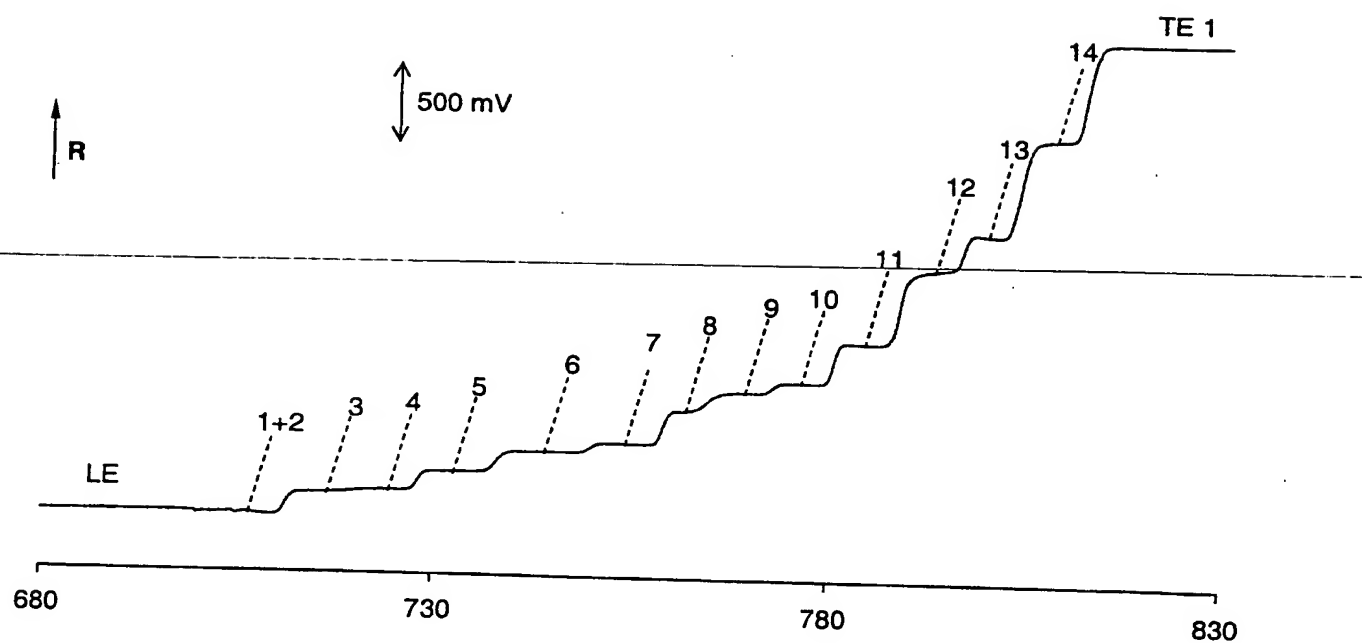
7/11

Fig. 7



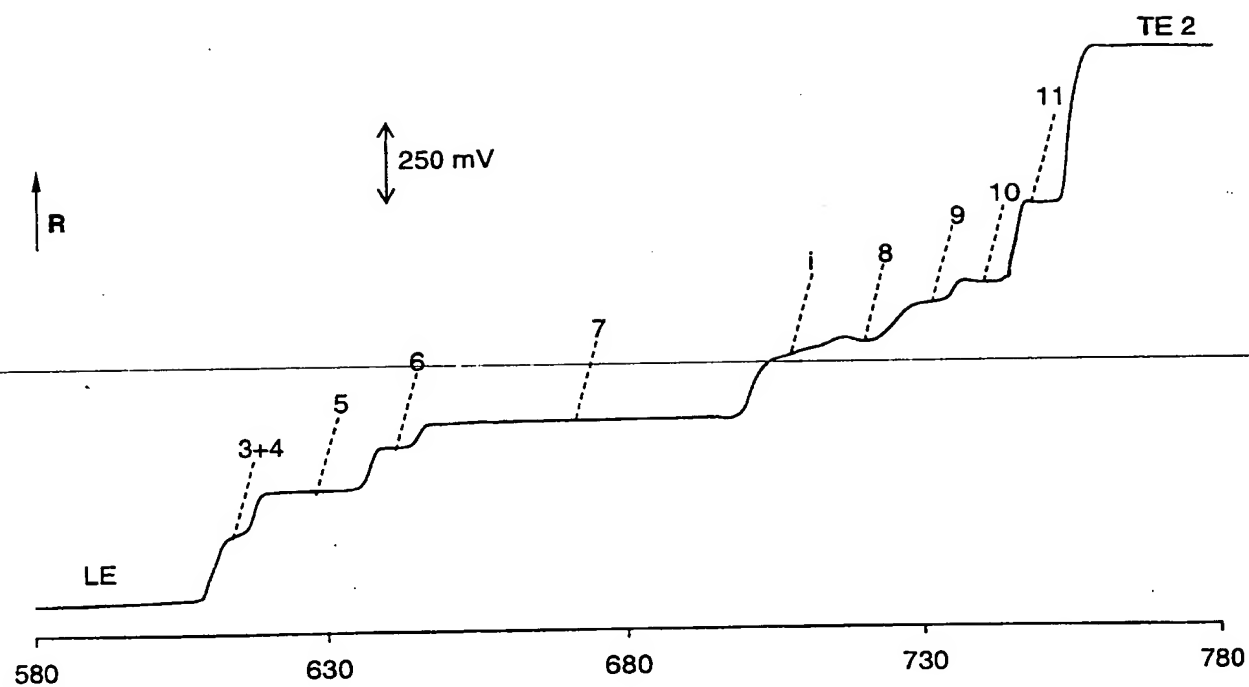
8/11

Fig. 8



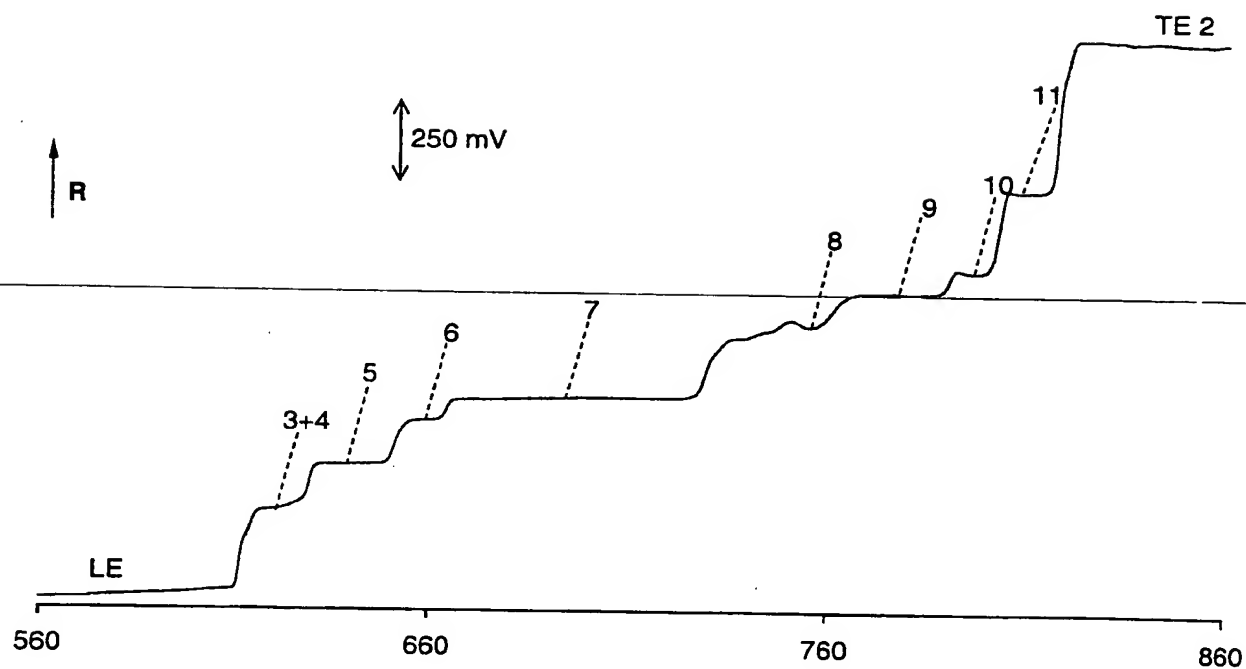
9/11

Fig. 9



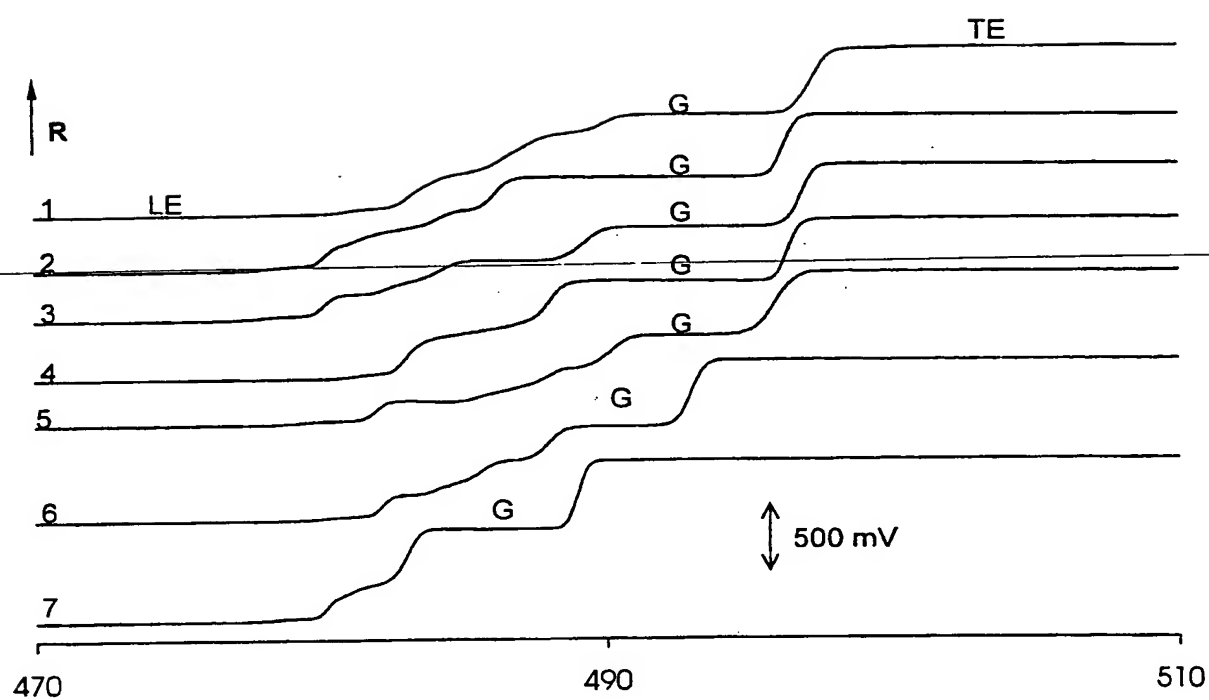
10/11

Fig. 10



11/11

Fig. 11



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/05206

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 G01N27/447 G01N30/60 G01N35/08 G01N15/14 B01L3/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5 882 465 A (MCREYNOLDS RICHARD J) 16 March 1999 (1999-03-16) column 3, line 29 -column 5, line 60; figure 2	1,2
A		3,4
Y	WO 98 32535 A (VIOVY JEAN LOUIS ;LINDBERG PETER (SE); ROERADE JOHAN (SE); STJERN) 30 July 1998 (1998-07-30) page 1, line 1 -page 2, line 5	1,2
Y	WO 91 16966 A (PHARMACIA BIOSENSOR AB) 14 November 1991 (1991-11-14) page 9, line 28 -page 11, line 31 -/-	2

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 September 2000

Date of mailing of the international search report

17/10/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Brison, O

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/05206

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 98 45693 A (SOANE DAVID S ;SOANE ZOYA M (US); ACLARA BIOSCIENCES (US); AMIGO M) 15 October 1998 (1998-10-15) page 2, line 3-11; example 2	1,2
A	WO 98 09161 A (UNIV CALIFORNIA) 5 March 1998 (1998-03-05) page 6, line 25-31	1-6
A	WO 99 19717 A (SHEA LAURENCE R ;ACLARA BIOSCIENCES INC (US); BJORNSEN TORLEIF OVE) 22 April 1999 (1999-04-22) page 34, line 8 -page 35, line 25	1,2,4-6
A	WO 94 29400 A (PHARMACIA LKB BIOTECH ;OEHRMAN OVE (SE)) 22 December 1994 (1994-12-22) abstract & EP 0 738 306 A 23 October 1996 (1996-10-23) cited in the application	1
A	WO 97 38300 A (SOANE BIOSCIENCES) 16 October 1997 (1997-10-16) cited in the application abstract	1-6
A	US 5 882 571 A (BEK FRITZ ET AL) 16 March 1999 (1999-03-16) the whole document & US 5 571 410 A 5 November 1996 (1996-11-05) cited in the application	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/05206

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5882465	A	16-03-1999	NONE	
WO 9832535	A	30-07-1998	AU 5788398 A EP 0964747 A	18-08-1998 22-12-1999
WO 9116966	A	14-11-1991	SE 470347 B AT 130528 T DE 69114838 D DE 69114838 T EP 0527905 A JP 2983060 B SE 9001699 A US 5376252 A	31-01-1994 15-12-1995 04-01-1996 05-06-1996 24-02-1993 29-11-1999 11-11-1991 27-12-1994
WO 9845693	A	15-10-1998	US 6054034 A AU 7101698 A EP 1015878 A	25-04-2000 30-10-1998 05-07-2000
WO 9809161	A	05-03-1998	US 6045676 A US 5906723 A AU 714163 B AU 4090597 A CN 1235674 A EP 0922218 A	04-04-2000 25-05-1999 23-12-1999 19-03-1998 17-11-1999 16-06-1999
WO 9919717	A	22-04-1999	AU 1517999 A EP 1032824 A	03-05-1999 06-09-2000
WO 9429400	A	22-12-1994	SE 501380 C DE 69406020 D DE 69406020 T EP 0738306 A ES 2109706 T JP 9502795 T SE 9302051 A	30-01-1995 06-11-1997 26-02-1998 23-10-1996 16-01-1998 18-03-1997 16-12-1994
WO 9738300	A	16-10-1997	US 5858188 A AU 715268 B AU 2436497 A CA 2249886 A EP 0990147 A JP 2000508763 T US 6054034 A	12-01-1999 20-01-2000 29-10-1997 16-10-1997 05-04-2000 11-07-2000 25-04-2000
US 5882571	A	16-03-1999	US 5658413 A US 5500071 A US 6093362 A EP 0734281 A EP 0734282 A JP 9508706 T WO 9612545 A WO 9612546 A US 6033628 A US 5804022 A EP 0708330 A EP 0708331 A US RE36350-E US 5571410 A	19-08-1997 19-03-1996 25-07-2000 02-10-1996 02-10-1996 02-09-1997 02-05-1996 02-05-1996 07-03-2000 08-09-1998 24-04-1996 24-04-1996 26-10-1999 05-11-1996

Information on patent family members

PCT/EP 00/05206

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Abkürzungszeichen

PCT/EP 00/05206

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G01N27/447 G01N30/60 G01N35/08 G01N15/14 B01L3/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G01N B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	US 5 882 465 A (MCREYNOLDS RICHARD J) 16. März 1999 (1999-03-16) Spalte 3, Zeile 29 -Spalte 5, Zeile 60; Abbildung 2	1,2
A		3,4
Y	WO 98 32535 A (VIOVY JEAN LOUIS ;LINDBERG PETER (SE); ROERADE JOHAN (SE); STJERN) 30. Juli 1998 (1998-07-30) Seite 1, Zeile 1 -Seite 2, Zeile 5	1,2
Y	WO 91 16966 A (PHARMACIA BIOSENSOR AB) 14. November 1991 (1991-11-14) Seite 9, Zeile 28 -Seite 11, Zeile 31 -/-	2

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindertischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindertischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

25. September 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

17/10/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Brison, O

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 98 45693 A (SOANE DAVID S ;SOANE ZOYA M (US); ACLARA BIOSCIENCES (US); AMIGO M) 15. Oktober 1998 (1998-10-15) Seite 2, Zeile 3-11; Beispiel 2	1,2
A	WO 98 09161 A (UNIV CALIFORNIA) 5. März 1998 (1998-03-05) Seite 6, Zeile 25-31	1-6
A	WO 99 19717 A (SHEA LAURENCE R ;ACLARA BIOSCIENCES INC (US); BJORNSEN TORLEIF OVE) 22. April 1999 (1999-04-22) Seite 34, Zeile 8 -Seite 35, Zeile 25	1,2,4-6
A	WO 94 29400 A (PHARMACIA LKB BIOTECH ;OEHRMAN OVE (SE)) 22. Dezember 1994 (1994-12-22) Zusammenfassung & EP 0 738 306 A 23. Oktober 1996 (1996-10-23) in der Anmeldung erwähnt	1
A	WO 97 38300 A (SOANE BIOSCIENCES) 16. Oktober 1997 (1997-10-16) in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung	1-6
A	US 5 882 571 A (BEK FRITZ ET AL) 16. März 1999 (1999-03-16) das ganze Dokument & US 5 571 410 A 5. November 1996 (1996-11-05) in der Anmeldung erwähnt	1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05206

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5882465 A	16-03-1999	KEINE	
WO 9832535 A	30-07-1998	AU 5788398 A EP 0964747 A	18-08-1998 22-12-1999
WO 9116966 A	14-11-1991	SE 470347 B AT 130528 T DE 69114838 D DE 69114838 T EP 0527905 A JP 2983060 B SE 9001699 A US 5376252 A	31-01-1994 15-12-1995 04-01-1996 05-06-1996 24-02-1993 29-11-1999 11-11-1991 27-12-1994
WO 9845693 A	15-10-1998	US 6054034 A AU 7101698 A EP 1015878 A	25-04-2000 30-10-1998 05-07-2000
WO 9809161 A	05-03-1998	US 6045676 A US 5906723 A AU 714163 B AU 4090597 A CN 1235674 A EP 0922218 A	04-04-2000 25-05-1999 23-12-1999 19-03-1998 17-11-1999 16-06-1999
WO 9919717 A	22-04-1999	AU 1517999 A EP 1032824 A	03-05-1999 06-09-2000
WO 9429400 A	22-12-1994	SE 501380 C DE 69406020 D DE 69406020 T EP 0738306 A ES 2109706 T JP 9502795 T SE 9302051 A	30-01-1995 06-11-1997 26-02-1998 23-10-1996 16-01-1998 18-03-1997 16-12-1994
WO 9738300 A	16-10-1997	US 5858188 A AU 715268 B AU 2436497 A CA 2249886 A EP 0990147 A JP 2000508763 T US 6054034 A	12-01-1999 20-01-2000 29-10-1997 16-10-1997 05-04-2000 11-07-2000 25-04-2000
US 5882571 A	16-03-1999	US 5658413 A US 5500071 A US 6093362 A EP 0734281 A EP 0734282 A JP 9508706 T WO 9612545 A WO 9612546 A US 6033628 A US 5804022 A EP 0708330 A EP 0708331 A US RE36350 E US 5571410 A	19-08-1997 19-03-1996 25-07-2000 02-10-1996 02-10-1996 02-09-1997 02-05-1996 02-05-1996 07-03-2000 08-09-1998 24-04-1996 24-04-1996 26-10-1999 05-11-1996

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05206

Im Recherchenbericht
angeführtes Patentdokument

Datum der
Veröffentlichung

Mitglied(er) der
Patentfamilie

Datum der
Veröffentlichung

US 5882571 A

US 5641400 A

24-06-1997

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☒ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.